

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
Campus Baixada Santista

MARIANA CRUZ LAZZARIN

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO
SOBRE A MUSCULATURA ESQUELÉTICA DE
RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Santos
2013

MARIANA CRUZ LAZZARIN

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A MUSCULATURA ESQUELÉTICA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de São Paulo como parte dos requisitos curriculares para obtenção do título de bacharel em Educação Física – Modalidade Saúde

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Medeiros

Co-orientadora: Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga

Santos

2013

MARIANA CRUZ LAZZARIN

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A MUSCULATURA
ESQUELÉTICA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Este exemplar corresponde a redação final do Trabalho de Conclusão de Curso defendido por Mariana Cruz Lazzarin e aprovado pela Banca Examinadora em 17/12/2013.

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Medeiros

Co-orientadora: Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga

Santos

2013

Banca examinadora



Mtda. Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga

Co-orientadora



Profa. Dra. Camila Aparecida Machado de Oliveira



Prof. Dr. Ricardo José Gomes

Santos

2013

DEDICATÓRIA

Dedico esse Trabalho de Conclusão de Curso primeiramente a Deus e a Nossa Senhora por todas as bênçãos alcançadas até esse momento.

Dedico também a todas as pessoas que me incentivaram durante esses 21 anos de estudo, desde o primeiro dia no jardim de infância até o presente momento, pois tudo se trata de um grande ciclo.

Dedica principalmente a minha família, minha mãe Alaide, que em todos os momentos me incentivou a evoluir, independente do resultado que tivesse obtido, ao meu pai Helder e ao meu irmão João Felipe, por estarem ao meu lado compartilhando dos meus sonhos e vontades.

Dedico esse trabalho também ao Nuno, por ser uma pessoa tão especial e companheira, estando presente em todos os momentos da elaboração desse trabalho, dando-me força, ouvindo as minhas inseguranças, mas em todos os momentos me incentivando a continuar trabalhando, porque no final tudo daria certo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha professora orientadora, Profa. Dra. Alessandra Medeiros, pelo imenso apoio dado durante a minha graduação, pela sua amizade e por ser um grande exemplo de profissional.

Agradeço também à minha co-orientadora, Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, pela oportunidade de aprendizado e o tempo de dedicação.

Agradeço a Dra. Livia Assis, pelo total apoio e colaboração para elaboração desse trabalho.

Agradeço a todos os docentes da Unifesp, Campus Baixada Santista, que fizeram parte da minha formação, pelo conhecimento transmitido e dedicação com a docência.

Agradeço a todos os meus amigos e amigas desses cinco anos de graduação, que fizeram dessa fase, a fase mais incrível da minha vida.

Agradeço a todos os professores do SESC Santos pelos ensinamentos, e agradeço principalmente a uma pessoa muito especial, Mayra, pelo encorajamento me dado a todo o momento, pelo apoio, incentivo e amizade construída mesmo que em pouco tempo de convívio.

Agradeço a todas as pessoas que me ajudaram na elaboração desse trabalho.

*Enxergue além, planeje além e trabalhe além. Assim talvez você conquistará além.
Agora, se enxergar o óbvio, seguir o óbvio e dedicar-se ao óbvio, é óbvio que as suas conquistas
estarão no máximo na mediocridade.
(Flávio Augusto da Silva)*

RESUMO

LAZZARIN, M.C. **Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a musculatura esquelética de ratas ovariectomizadas**. 2013. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Bacharel em Educação Física Modalidade Saúde – Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2013.

O estudo investigou os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a massa muscular e a área da fibra muscular dos músculos sóleo de ratas ovariectomizadas. As ratas foram separadas em quatro grupos: controle sedentário (CS), controle treinado (CT), ovariectomizado sedentário (OS) e ovariectomizado treinado (OT). Os animais ovariectomizados foram submetidos à ooforectomia bilateral para retirada dos ovários e após isso foram submetidos a um treinamento aeróbio com duração de 8 semanas, frequência semanal de 5 dias, sendo uma hora de exercício físico aeróbio com intensidade de 50 a 60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço inicial. Os animais também passaram por teste progressivo até a exaustão máxima no começo, meio e final do protocolo de treinamento. Após o término do treinamento, os animais foram anestesiados para retirada dos músculos sóleo e plantar. Os músculos foram pesados, processados em parafina e emblocados. Foram feitas lâminas com cortes transversais para a análise da área das fibras e a coloração utilizada foi hematoxilina-eosina. O grupo OT apresentou diferença significativa ($p<0,05$) nos valores de massa muscular quando comparado com o grupo OS. Em ambos os músculos, o OT apresentou maiores valores que o OS. O valor da área da fibra muscular não apresentou valores significativos. A tolerância à realização de esforço físico apresentou diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos sedentários (CS e OS) e treinados (CT e OT), CT e OT tiveram maior distância percorrida no teste máximo. Entre os grupos treinados (CT e OT), o grupo ovariectomizado apresentou menor distância percorrida, sendo essa diferença significativa ($p<0,05$). Conclui-se que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada, com duração de oito semanas, foi capaz de manter a massa dos músculos sóleo e plantar, assim como aumentar significativamente a tolerância ao esforço físico das ratas ovariectomizadas (OT) em relação ao grupo sedentário (OS).

Palavras-chave: Menopausa, Músculo Esquelético, Exercício Físico, Hipogonadismo.

ABSTRACT

The study investigated the effects of aerobic exercise training on muscle mass and the area of the muscle fiber of soleus and plantaris muscles of ovariectomized rats. The rats were divided into four groups: sedentary control (SC), trained control (TC), ovariectomized sedentary (OS) and ovariectomized trained (OT). The animals were ovariectomized underwent bilateral oophorectomy for withdrawal of the ovaries and after it underwent an aerobic training with duration of 8 weeks, 5 days weekly frequency, being one hour of aerobic exercise with an intensity of 50 to 60% of maximum speed achieved in the initial stress test. The animals also underwent progressive test until maximal exhaustion at the beginning, middle and end of the training protocol. After the end of the training, the animals were anesthetized for withdrawal of the soleus and plantaris muscles. The muscles were weighed, processed in paraffin and placed into molds. Slides were made with cross-sections for the analysis of fiber area and the coloring used was hematoxylin-eosin. The OT group showed significant difference ($p<0,05$) when compared the amounts of muscle mass with the group OS. In both muscles, OT values were higher than the OS. The value of the area of the muscle fiber had no significant values. The tolerance to performing physical effort showed significant difference ($p<0,05$) between sedentary groups (SC e OS) and trained (TC and OT), TC and OT had higher maximum test distance. Among the trained groups (TC and OT), the ovariectomized group showed lower distance traveled, being a significant difference ($p<0,05$). We conclude that aerobic exercise training of moderate intensity, lasting eight weeks, was able to maintain the weight of the soleus and plantaris muscles, as well as significantly increase exercise tolerance of ovariectomized rats (OT) compared to the sedentary group (OS).

Keywords: Menopause, Skeletal Muscle, Physical Exercise, Hypoestrogenism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Tabela 1 – Protocolo utilizado para adaptação em esteira rolante.....	18
Tabela 2 – Massa corporal nos períodos pré e pós-treinamento.....	22
Tabela 3 – Massa muscular (mg) corrigida pela massa corporal (g).....	25
Tabela 4 – Área da fibra muscular (μm^2) dos músculos sóleo e plantar.....	27
Figura 1 – Cronograma para teste de esforço máximo.....	19
Figura 2 – Massa corporal das ratas momento pré e pós-treinamento.....	21
Figura 3 – Evolução da massa corporal ao longo das semanas.....	23
Figura 4 – Conteúdo de gordura retroperitoneal corrigido pela massa muscular.....	24
Figura 5 – Área da fibra muscular do músculo sóleo.....	26
Figura 6 - Área da fibra muscular do músculo plantar.....	26
Figura 7 – Teste de tolerância ao esforço físico.....	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Climatério/Menopausa: conceito e fisiopatologia.....	13
2.2. Hipoenstrogenismo e músculo esquelético	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1. Caracterização da pesquisa.....	17
3.2. Amostra	17
3.3. Cuidados éticos para com os procedimentos experimentais	17
3.4. Procedimento para ooforectomia bilateral	18
3.5. Protocolo de adaptação e treinamento físico aeróbio	18
3.6. Avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo	19
3.7. Processamento das amostras e eutanásia dos animais.....	19
3.8. Análise da área da fibra muscular	19
3.9. Análise Estatística	20
4. RESULTADOS	21
4.1. Massa corporal	21
4.2. Gordura Retroperitoneal.....	23
4.3. Massa muscular	23
4.4. Área da fibra muscular	24
4.5. Tolerância ao esforço físico progressivo.....	26
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO.....	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
ANEXO	37

1. INTRODUÇÃO

A demografia do Brasil está passando por um processo avançado de transição, com aumento da expectativa de vida e decréscimo na taxa de natalidade, fator muito característico de países em desenvolvimento (FERNANDES E FILHO, 1995). Segundo dados do Censo 2012, o Brasil tem hoje 18 milhões de pessoas acima de 60 anos (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). Em 1987, Kalache e seus colaboradores relataram que o crescimento da população idosa no Brasil seria da ordem de 15 vezes, isso entre o período de 1950 e 2025, um crescimento três vezes maior que a população geral do país.

Em 2010, segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, um recém-nascido do sexo masculino, com o nascimento em 2011, tinha como expectativa de vida 70,6 anos, e a expectativa de vida de um recém-nascido do sexo feminino, nascido nas mesmas condições era de 77,7 anos. Observa-se com isso, o processo de envelhecimento associado a feminização da população idosa, já que as mulheres apresentam uma expectativa de vida maior que a dos homens (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

Analizando particularmente a população feminina, o Brasil apresenta aproximadamente 30 milhões de mulheres entre os 35 e 65 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008), ou seja, aproximadamente 30 milhões de mulheres estão na faixa etária que ocorre o climatério, correspondendo a 32% da população feminina brasileira. Contabilizando que a mulher tenha uma expectativa de vida que se aproxime de 78 anos, quase 1/3 da vida ocorre na fase do climatério.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, o climatério é um processo biológico e não patológico, que corresponde à transição da vida reprodutiva para a vida não reprodutiva. Cronologicamente, o período se inicia a partir dos 35 anos de idade e se estende até os 65 anos de idade. Já a menopausa, o grande marco dessa fase, geralmente em torno dos 50 anos de idade, corresponde à última menstruação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Nesse período de transição da fase reprodutiva para não reprodutiva, com a deficiência de esteroides gonodais femininos, dentre eles, o estrógeno (IGNÁCIO *et. al.*, 2009), a mulher sofre diversas alterações metabólicas, cardiovasculares e de composição corporal (DOS REIS *et. al.*, 2000) e por esse motivo, a sua saúde merece grande atenção, com um acompanhamento interdisciplinar que vise à promoção de saúde, diagnóstico, tratamento dos agravos e prevenção de danos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Durante o climatério, ocorre o esgotamento folicular ovariano e com isso cessa a produção de estrógeno pelos ovários, gerando um estado de hipoestrogenismo (ALDRIGHI, 2002). O hipoestrogenismo é o grande responsável por diversas alterações no organismo feminino, dentre

elas alterações na composição corporal e distribuição da massa gorda (MESSIER *et. al.*, 2011), diminuição da massa isenta de gordura, tanto do tecido ósseo, como tecido musculo esquelético (KUCZMARSKI, WEDDLE, JONES, 2010) e aumento do risco cardiovascular (ALDRIGHI, 2002; DE LORENZI E BARACAT, 2005).

Particularmente, para a área da Educação Física, compreender as alterações musculares durante e/ou após o climatério é bastante importante, principalmente porque a ação do estrógeno no músculo esquelético é uma descoberta recente, descrita pela primeira vez em estudos da década de 90, relatando a presença de receptores de estrógeno nas fibras musculares.

O músculo esquelético possui beta-receptores de estrógeno na membrana celular, no citoplasma e na membrana nuclear das células musculares, dessa forma, o estrógeno está relacionado ao metabolismo e a síntese proteica no tecido músculo esquelético (BROWN, 2008). Com isso, baixas concentrações de estrógeno no organismo apresentam um papel importante na perda de massa muscular (DOUCHI *et. al.*, 1998). Além disso, tem sido sugerido que baixas concentrações de estrógeno estejam associadas com o aumento de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), e tal estado inflamatório resultaria nesse catabolismo muscular (ROUBENOFF, 2003).

Contudo, outros fatores também estão sendo enumerados para explicar a perda de massa muscular após a menopausa. Além da atividade inflamatória (ROUBENOFF, 2003), a presença de radicais livres contribuindo para o estresse oxidativo, a atividade mitocondrial prejudicada na célula muscular, a atividade apoptótica aumentada e a baixa ingestão de proteína seriam alguns desses fatores (MALTAIS, DESROCHES e DIONNE, 2009; LANG *et. al.*, 2010).

Após a menopausa, além de perda de massa muscular, a musculatura esquelética também sofre mudança na sua composição. Jubrias e seus colaboradores (1997) demonstraram que o músculo esquelético, após a menopausa, apresenta o dobro da gordura e de tecido não contrátil entre as fibras musculares. E também é observada uma mudança no tipo de fibra muscular. Kadi (2002), em conjunto com vários colaboradores, identificaram uma transição de isoformas da miosina de cadeia pesada (MHC) de contração rápida, para isoformas de MHC de contração lenta. Essa transição indica mudança na função de proteínas miofibrilares e no acoplamento excitação-contracção, gerando diminuição da capacidade de geração de força.

Entretanto, um estudo realizado por Fonseca e colaboradores (2012), propõe que, em um modelo experimental de menopausa, a perda de massa muscular esteja relacionada à redução da atividade física voluntária e não às baixas concentrações de hormônios sexuais, colocando o sedentarismo entre os fatores mais importante e relevantes para a sarcopenia após a menopausa. Tal evento também é observado com humanos. Segundo Boirie (2009), a diminuição dos níveis de atividade física em mulheres na menopausa está diretamente relacionada à perda da massa e da

força muscular, com possível comprometimento funcional e incapacidade física na mulher pós-menopáusia.

Diante disso, o objetivo geral desse estudo é analisar a morfologia do músculo esquelético após o treinamento físico aeróbio em modelo experimental de menopausa. De uma forma mais específica, os objetivos são:

- Analisar o efeito do treinamento físico aeróbio de oito semanas sobre a área da fibra dos músculos sóleo e plantar de ratas ovariectomizadas;
- Analisar o efeito do treinamento físico aeróbio de oito semanas sobre a massa dos músculos sóleo e plantar de ratas ovariectomizadas;
- Analisar o efeito do treinamento físico aeróbio de oito semanas sobre a tolerância a realização de exercício físico de ratas ovariectomizadas;

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Climatério/Menopausa: conceito e fisiopatologia

Em 1976, no 1º Congresso Mundial de Climatério, alguns conceitos foram emitidos para serem considerados os oficiais para o universo científico. Climatério seria a fase da vida da mulher em que ocorre a transição do período reprodutivo para o não reprodutivo. Enquanto a menopausa seria simplesmente a última menstruação (FERNANDES E FILHO, 1995). Entretanto, sabe-se que o climatério é algo muito mais abrangente que apenas uma fase transitória, e por esse motivo, Fernandes e seus colaboradores, definiram o climatério como “distúrbio endócrino que se expressa por uma deficiência de hormônios esteroides sexuais, resultante da insuficiência ovariana secundária ao consumo de folículos primordiais que constituem o patrimônio genético de cada mulher”.

Já segundo a Organização Mundial da Saúde (1990), os dois termos foram agrupados, e menopausa passou a ser definida como o momento da vida de uma mulher em que a capacidade reprodutiva cessa. O que é certo é que os dois termos correspondem ao momento biológico em que a mulher, devido ao fim da secreção hormonal dos ovários, apresenta interrupção fisiológica dos ciclos menstruais, deixando de ser fértil para a reprodução humana (FERREIRA *et. al.*, 2013). Porém, essa transição não ocorre com um só evento, ela pode ser dividida em três fases (SANTOS *et. al.*, 2007):

- Fase pré-menopausal: período final da menacme;

- Fase perimenopausal: período de dois anos antes e dois anos após a última menstruação. Período em que se iniciam as alterações endócrinas, biológicas e clínicas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996);

- Fase pós-menopausal: período que se inicia após dois anos do último ciclo menstrual.

A alteração endócrina citada na fase perimenopausal está diretamente relacionada à diminuição da atividade folicular ovariana associada à queda na produção de hormônios sexuais (ALDRIGHI, 2002). Durante a menopausa, existe uma relação direta entre a diminuição dos hormônios ovarianos e o aumento de gonadotrofinas hipofisárias. Os hormônios ovarianos podem ser divididos em esteroides, como estrógeno e progesterona, e em peptídeos. Tanto o estrógeno como os hormônios peptídeos são produzidos e secretados pelas células granulosas do ovário, principalmente pelas células do folículo ovariano, enquanto que a progesterona é produto do corpo lúteo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1996).

Estrógeno é o grupo de hormônios esteroides com 18 carbonos (KENDALL E ESRON, 2002) e está relacionado à homeostasia do sistema reprodutor, cardiovascular, sistema nervoso central e também sobre o musculoesquelético, pois foram encontrados receptores de estrógeno nas fibras musculares, indicando a ação desse hormônio sobre as mesmas (WIIK *et. al.*, 2003). Esse grupo de hormônios é composto por três hormônios esteroides muito semelhantes estruturalmente: 17β -estradiol, estrona e estriol (KENDALL E ESRON, 2002). A regulação da secreção dos hormônios gonadais é feita pelo eixo hipotálamo-aden-hipófise (BULUN E ADASHI, 2003). A hipófise anterior, estimulada pelo hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), secreta os hormônios folículo estimulante (FSH) e o luteinizante (LH). O papel do FSH é controlar o crescimento folicular e, nas células da granulosa, regular a produção de estradiol. Já o LH aumenta a captação de colesterol e estimula a secreção de hormônios andrógenos. Na fase ovulatória, o FSH e o LH aumentam a produção de estradiol e de progesterona, e por mecanismo de retroalimentação negativa, esses hormônios inibem a secreção de GnRH (BULUN E ADASHI, 2003).

Após a menopausa, as células foliculares ovarianas esgotam-se, comprometendo a produção de estradiol. Com uma nova organização celular e sobre a ação do LH, as células ovarianas produzem andrógenos, tendo como principal representante a androstenediona. Nesse momento, androstenediona passa por uma conversão e é transformada em estrona, com ação muito mais fraca que o estradiol. Assim, os níveis de estrógenos apresentam-se extremamente baixos e com isso todos os tecidos alvo desses hormônios sofrem modificações bastante relevantes (FERNANDES, 1995).

2.2. Hipoestrogenismo e músculo esquelético

Como já foi narrado anteriormente, o estado de hipoestrogenismo provoca diversas alterações sistêmicas no organismo da mulher pós-menopáusia (ALDRIGHI, 2002). Tornam-se presentes alterações tanto no âmbito cardiovascular, com o aumento do risco às doenças cardiovasculares, como alteração na composição corporal, com aumento do tecido adiposo e diminuição da massa magra, dentre elas tecido muscular e tecido ósseo (KUCZMARSKI, WEDDLE, JONES, 2010).

De forma particular, as alterações no tecido muscular merecem bastante atenção e discussão. O tecido muscular-esquelético corresponde a maior massa celular e maior componente proteico do organismo humano e está associado diretamente a saúde e qualidade de vida do indivíduo (PIERINE, NICOLA E OLIVEIRA, 2009). É também o grande responsável pela locomoção, força e movimentação do indivíduo, agindo diretamente na sua autonomia funcional e desempenho físico (DESCHENES, 2004). Além disso, o músculo esquelético é importante para a homeostase glicêmica e também metabólica de aminoácidos aos outros tecidos, assim como para a fixação tecidual de oxigênio e a sua capacidade aeróbia, oxidação de gorduras e gasto energético de repouso (PIERINE, NICOLA E OLIVEIRA, 2009).

Sabe-se que a quantidade de massa muscular no organismo humano é o resultado de uma equação que corresponde ao catabolismo proteico subtraído pelo anabolismo proteico (PIERINE, NICOLA E OLIVEIRA, 2009). O catabolismo e o anabolismo são compostos por diversos fatores que os constituem, como fatores físicos e químicos. Os fatores físicos do anabolismo são a tensão e a contração muscular, já o químico, é a presença de hormônios como insulina, testosterona, GH e IGF-1 e componentes nutricionais (TIMMERMAN E VOLPI, 2008). Para o catabolismo, os fatores físicos enumerados são desnervação e desuso muscular. E os fatores químicos, extremamente significativos para esse trabalho, é o estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias, acidose, resistência insulínica e hormônios glicocorticoides (PIERINE, NICOLA E OLIVEIRA, 2009).

Segundo Timmerman e Volpi (2009), desuso, estresse oxidativo e ausência de hormônios anabólicos são os principais fatores para a diminuição da massa muscular. E ainda Grimble (2003), relata que aparentemente, o catabolismo muscular aumentado é resultado da concentração aumentada de citocinas pró-inflamatórias, aumentando a apoptose em células musculares. Curiosamente, esses aspectos estão presentes no organismo da mulher pós-menopausa.

Sabe-se que boa parte do estrógeno na mulher é convertido em testosterona, porém, com o declínio da produção do estrógeno, característica principal da menopausa, a oferta de testosterona fica muito comprometida, tendo sua ação diminuída no anabolismo muscular (VOLPI, NAZEMI,

FUJITA, 2004). A testosterona, além da sua ação na síntese protéica, também inibe nos macrófagos, a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6, sugerindo que a diminuição desse hormônio promova catabolismo indireto sobre o músculo da mulher na menopausa (MORLEY, THOMAS E WILSON, 2006; VOLPI, NAZEMI E FUJITA, 2004).

2.3. Exercício físico aeróbio e músculo esquelético

Associado ao estado inflamatório do músculo esquelético está o baixo índice de atividade física que a mulher na pós-menopausa apresenta (BOIRIE, 2009 e ANDERSON, 2003). A inatividade física também é apontada como um fator para o catabolismo muscular, o desuso da musculatura esquelética tem sido narrado por alguns autores como um fator tão ou mais agravante que à baixa concentração de hormônios anabólicos no organismo feminino na menopausa (FONSECA *et.al.* 2012 e BOIRIE, 2009). Dessa forma, observa-se a perda da massa muscular após a menopausa como uma alteração multifatorial, pois é a soma de mudanças físicas (inatividade física), bioquímicas (presença de citocinas pró-inflamatórias, estresse oxidativo, apoptose aumentada) e também nutricionais (baixa ingestão de proteínas) (BOIRIE, 2009).

Com tantas alterações metabólicas e estruturais tem se pensado muito em intervenções que tenham como objetivo a promoção de saúde e a manutenção da qualidade da massa muscular da mulher na menopausa. Um possível meio de intervenção é o exercício físico aeróbio (SIROLA E RIKKONEN, 2005), isso porque o exercício físico aeróbio tem como um de seus benefícios à melhora na inflamação sistêmica (PETERSEN E PEDERSEN, 2005) e do estado apoptótico (VOLTARELLI, MELLO E DUARTE, 2008), assim como aumentar os níveis de atividade física. Com todos esses benefícios, seria possível que o treinamento físico aeróbio retardasse a perda de massa muscular após a menopausa, assim como melhorar a saúde do músculo esquelético.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização da pesquisa

A pesquisa foi de caráter experimental, pois visava estabelecer, com a manipulação os resultados, uma relação de causa-efeito (THOMAS E NELSON, 2002). E o método utilizado é o quantitativo, pois existe uma força atribuída à qualidade de alta confiabilidade/reprodutibilidade dos resultados que foram obtidos (TURATO, 2005).

3.2. Amostra

Foram estudadas ratas fêmeas (Wistar) provenientes da colônia do CEDEME da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, com oito semanas de idade no início do experimento, que permaneceram em gaiolas com cinco animais, onde foram alimentadas com dieta laboratorial padrão e água “ad libitum”. A temperatura ambiente foi mantida entre 22-23°C e foi adotado ciclo claro/escuro de 12 horas, com início do período claro às 7h e início do período escuro às 19h.

As ratas fêmeas Wistar foram distribuídas nos seguintes grupos experimentais:

- Ratas controle sedentárias (CS, n=10);
- Ratas controle treinadas (CT, n=10);
- Ratas ovariectomizadas sedentárias (OS, n=10);
- Ratas ovariectomizadas treinadas (OT, n=10).

As ratas ovariectomizadas correspondem a um modelo experimental de menopausa e para isso passaram pelo procedimento de ooforectomia bilateral, que consiste na retirada dos ovários, restringindo dessa forma a oferta de hormônio ovarianos. Já as ratas controle foram Sham operadas, isso consiste à exposição a todo o procedimento cirúrgico, porém sem a retirada dos ovários.

3.3. Cuidados éticos para com os procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos por pessoal treinado, estando de acordo com o Manual sobre Cuidados e Uso de Animais de Laboratório e com protocolos de uso e eutanásia de animais (COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH, 2003). O projeto faz parte de um projeto maior intitulado “Efeito do treinamento físico aeróbico sobre a resposta vasomotora de ratas ovariectomizadas” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo sob o número 0116/12. Para utilização dos dados foi elaborado o Termo de Consentimento para Utilização de Dados, e assinado por todos os membros envolvidos.

3.4. Procedimento para ooforectomia bilateral

As ratas dos grupos ovariectomizadas foram anestesiadas com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocadas em decúbito dorsal para que fosse feita uma pequena incisão (1 cm) em paralelo com a linha do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os ovários foram localizados e foi realizada a ligadura dos ovidutos, incluindo os vasos sanguíneos. Os ovidutos foram seccionados e os ovários removidos. A musculatura e a pele foram suturadas e uma dose de antibiótico (i.m.) foi administrada (Benzetacil, 40 000 U/Kg) (IRIGOYEN *et. al.*, 2009; LATOUR, SHINODA, LAVOIE, 2001).

Os grupos controle passaram pelo mesmo procedimento, porém não foi realizada a ligadura dos ovidutos, nem a remoção dos ovários. Tal procedimento foi realizado pelo pesquisador responsável pelo projeto.

3.5. Protocolo de adaptação e treinamento físico aeróbico

Uma semana após a cirurgia de ovariectomia, os grupos de ratas treinadas foram submetidos à adaptação em esteira rolante, a qual foi realizada por meio de sessões diárias de 10 minutos de exercícios em esteira rolante, durante 5 dias, em velocidades variadas (Tabela 1). Durante o período de treinamento, os animais sedentários continuaram realizando o mesmo protocolo duas vezes na semana, para que continuassem adaptados a esteira, permitindo assim a realização ao teste máximo.

PROTOCOLO PARA ADAPTAÇÃO EM ESTEIRA ROLANTE	
Tempo	Velocidade
2 minutos	3 m/min
2 minutos	6 m/min
2 minutos	10 m/min
2 minutos	15 m/min
2 minutos	2 m/min

TABELA 1. Protocolo utilizado após ooforectomia, para adaptação das ratas wistar em esteira rolante.

O protocolo de treinamento físico em esteira rolante foi iniciado uma semana após a ooforectomia e realizado com velocidade e carga progressiva durante 8 semanas (5 dias por semana) e intensidade de 50 a 60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço inicial, conforme descrito a seguir (DE ANGELIS *et. al.*, 1997; IRIGOYEN *et. al.*, 2009).

3.6. Avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo

Os animais realizaram um teste progressivo até a exaustão utilizando protocolo com velocidade inicial de 5m/min, sendo intensificado a cada 5 minutos com velocidade de 5m/min, até chegar o instante em que o animal não conseguisse manter o padrão de corrida. Este teste foi realizado no início, meio e fim do período de treinamento físico (Tabela 2).

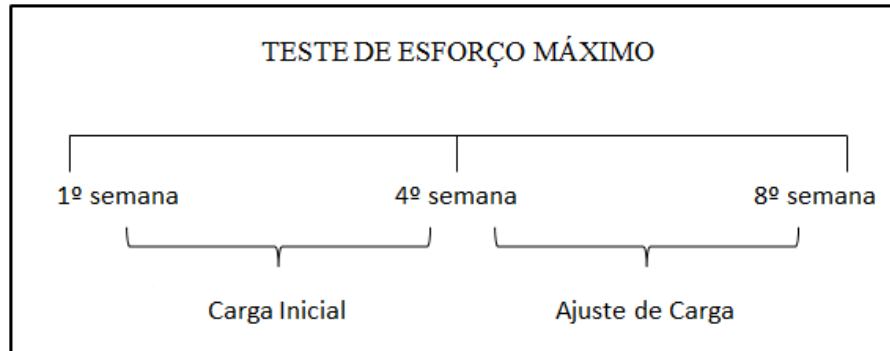


FIGURA 1. Cronograma de realização de teste de esforço máximo no período de treinamento na esteira rolante.

3.7. Processamento das amostras e eutanásia dos animais

Após um período de 24 horas da última sessão de treino, os animais foram anestesiados para a ressecção cirúrgica dos músculos sóleo e plantar. Após a retirada dos músculos, o animal foi decapitado, e foi retirada a gordura retroperitoneal, e posteriormente pesada.

Os músculos foram pesados e posteriormente, fixados em solução de formalina tamponada a 10%. Posteriormente, o material foi processado em parafina e emblocado. Realizam-se cortes transversais seriados com 5 μm de espessura através de um micrótomo (Leica RM – 2145, Germany) e as lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE) para realizações das análises da área da fibra muscular.

Tal procedimento foi realizado pelo próprio pesquisador.

3.8. Análise da área da fibra muscular

Cortes histológicos seriados obtidos da porção ventral dos músculos sóleo e plantar em micrótomo (5 μm) corado com HE foram escolhido para mensuração da área da fibra muscular via microscópio de luz (Axiolab, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) e software para análise morfométrica (Axiovision 4.7.1.0, Carl Zeiss, Jena, Alemanha). A área da fibra muscular de cada músculo foi obtida pela medida de cem fibras musculares localizadas na região central do corte histológico. Para cada músculo foi obtida a área de cada fibra muscular e feita a média para cada animal e posteriormente os resultados apresentados como a média de cada grupo examinado com os valores expressos em μm^2 (RODRIGUES, 2009).

3.9. Análise Estatística

Os dados obtidos nesse estudo foram apresentados como média \pm erro padrão da média e comparados por meio da análise de variância (ANOVA) de duas vias para medidas repetidas para tolerância ao esforço e de uma via para massa do músculo e área da fibra muscular, utilizando-se post-hoc de *Student Newman Keuls*. Para todas as análises adotou-se nível de significância $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

Os dados apresentados inicialmente correspondem a caracterização dos grupos nas fases pré e pós-treinamento físico e a evolução ao longo das 8 semanas de treinamento físico em esteira rolante para ratos. Posteriormente, os dados apresentados referem-se à massa muscular dos músculos sóleo e plantar, a área da fibra muscular dos respectivos grupos e à tolerância ao esforço físico progressivo,

4.1. Massa corporal

Inicialmente, a massa corporal dos grupos estudados se apresentou bastante homogênea, com valores muito próximos. Após o período de oito semanas, os grupos também apresentaram um aumento da massa corporal, porém esse aumento variou entre os grupos. Os grupos ovariectomizados (OS e OT) apresentaram um maior aumento quando comparados aos grupos controle (CS e CT). Além disso, o aumento da massa corporal do grupo ovariectomizadas treinadas (OT) foi de menor magnitude quando comparado a massa corporal do grupo ovariectomizado sedentário (OS). De uma forma geral, os grupos treinados (CT e OT) apresentaram menores valores que os grupos sedentários (CS e OS) (Figura 2 e Tabela 2).

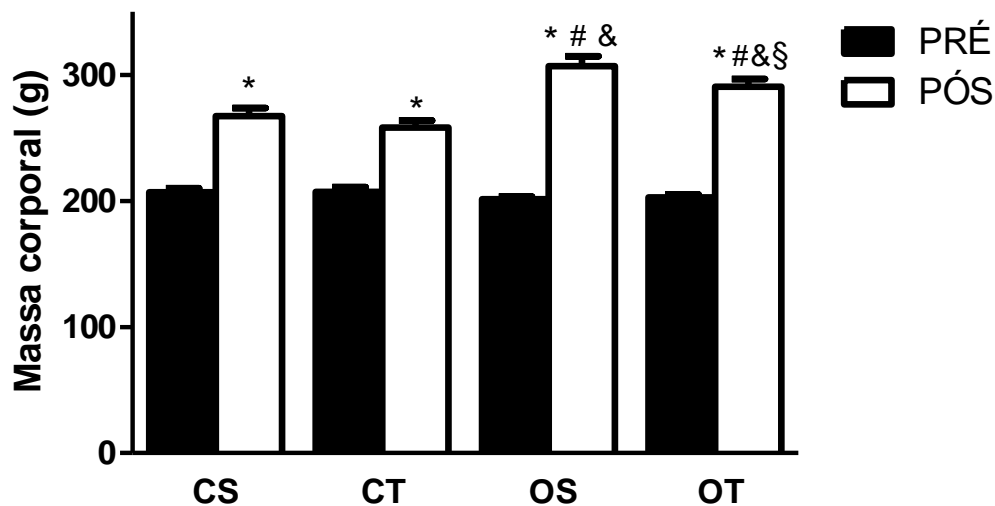


FIGURA 2. Massa corporal das ratas dos diferentes grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10), nos momentos pré (PRÉ) e pós período experimental (PÓS). * diferença significativa versus o momento PRÉ do respectivo grupo; # diferença significativa versus CS PRÉ e PÓS; & diferença significativa versus CT PRÉ e PÓS; § diferença significativa versus OS PRÉ e PÓS ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

TABELA 2. Massa corporal nos períodos pré e pós-treinamento de todos os grupos: CS-SHAM (n=10), CT-SHAM (n=10), OS (n=10) e OT (n=10).

Massa Corporal	Grupos			
	CS	CT	OS	OT
Pré	207±3,4	207±3,8	201±2,2	203±2,2
Pós	267±6,4	258±5,5	307±7,9*	291±6,2*#
Delta	60±4,9	46±7,0	106±6,5*	88 ±6,7*

* diferença significativa vs os grupos controle (CS e CT);

diferença significativa vs o respectivo grupo sedentário (OS) ($p \leq 0,05$).

A figura 3 representa o comportamento da massa corporal ao longo do protocolo experimental. É possível observar que o aumento da massa corporal foi gradual conforme o passar das semanas. Porém, após a 5ª semana, com o reajuste da carga do exercício físico aeróbico, os grupos passaram a apresentar diferenças significativas. O grupo ovariectomizada sedentária (OS) apresentou um aumento de maior magnitude se comparado ao grupo ovariectomizada sedentária (OS). Além disso, após a 7ª semana, o grupo controle que realizou o treinamento físico aeróbico apresentou um menor aumento da massa corporal se comparado ao grupo controle que permaneceu sedentário durante as oito semanas do protocolo experimental.

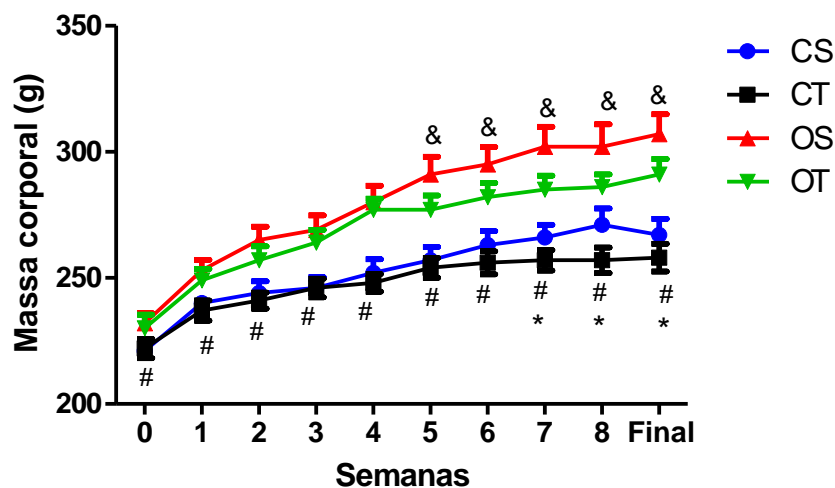


FIGURA 3. Evolução da massa corporal de todos os grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10), durante todo o protocolo experimental. * diferença significativa CS versus CT; # diferença significativa entre os grupos controles (CS e CT) e ovariectomizados (OS e OT); & diferença significativa do grupo OS versus OT ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*

4.2. Gordura Retroperitoneal

A figura 4 apresenta uma relação entre a gordura retroperitoneal e a massa corporal dos grupos. Comparando os dois grupos ovariectomizados, pode-se observar que o grupo ovariectomizado treinado apresentou menor valor que o grupo ovariectomizado sedentário. Já em uma análise geral, o grupo OS apresentou maiores valores quando comparado com os três outros grupos (CS, CT, OS). Um dado interessante é que as ratas do grupo OT apresentaram valores muito próximos do grupo CT, e até menores que o grupo CS.

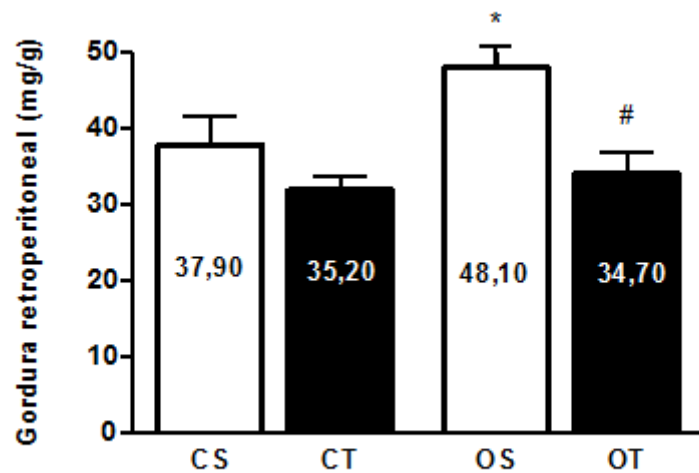


FIGURA 4. Conteúdo de gordura retroperitoneal corrigido pela massa corporal (mg/g massa corporal) dos grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10). * diferença significativa versus o grupo controle (CS e CT); # diferença significativa versus o respectivo grupo sedentário ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

4.3. Massa muscular

Na tabela 3 estão apresentados os valores da massa muscular em miligramas corrigida pela massa corporal em gramas dos músculos sóleo e plantar, após oito semanas, tanto de treinamento, como de sedentarismo.

Os dados referentes ao músculo sóleo nos mostram que o grupo ovariectomizado submetido ao processo de treinamento físico aeróbico (OT) apresentou maiores valores de massa muscular que o grupo ovariectomizado sedentário, além disso, o grupo ovariectomizado sedentário apresentou ainda menores valores quando também comparado ao outro grupo que também permaneceu sedentário (CS).

Já os dados do músculo plantar apresentaram um comportamento diferente. Os grupos controle não obtiveram diferença significativa entre eles. Da mesma forma que o grupo ovariectomizada sedentária não demonstrou alteração da massa muscular se comparado com os grupos controle. Porém, o grupo ovariectomizada treinada apresentou valores bastante significativos em relação a outros dois grupos: CS e OS. As ratas OT tiveram maior massa muscular que as ratas controle e ovariectomizadas, ambas sedentárias.

TABELA 3. Massa muscular (mg) corrigida pela massa corporal (g) de todos os grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10)

Variáveis	Grupos			
Massa	CS	CT	OS	OT
Sóleo (mg/g)	0,059±0,002	0,061±0,002	0,052±0,002*	0,061±0,002 [#]
Plantar (mg/g)	0,086±0,003	0,089±0,003	0,084±0,002	0,101±0,01** [#]

* diferença significativa vs os grupos controle (CS e CT);

** diferença significativa vs o grupo controle (CS);

diferença significativa vs o respectivo grupo sedentário (OS) (p≤0,05).

4.4. Área da fibra muscular

As figuras 5 e 6 e a tabela 4 apresentam os valores da área da fibra dos músculos sóleo e plantar respectivamente, constituído por um grupo experimental de quatro animais.

Analisando a área da fibra muscular dos dois músculos, observa-se que os valores foram extremamente próximos, tanto entre os grupos treinado e sedentário, assim como entre os grupos controle e ovariectomizado. Os quatro grupos, para os dois músculos analisados apresentaram uma média nos valores, sem mostrar nenhuma diferença significativa.

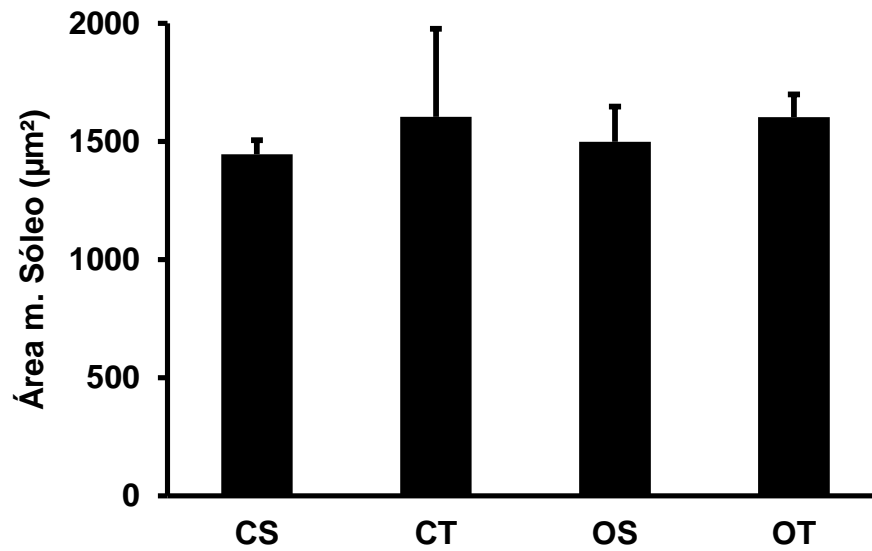


FIGURA 5. Área da fibra muscular do músculo sóleo de todos os grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média.

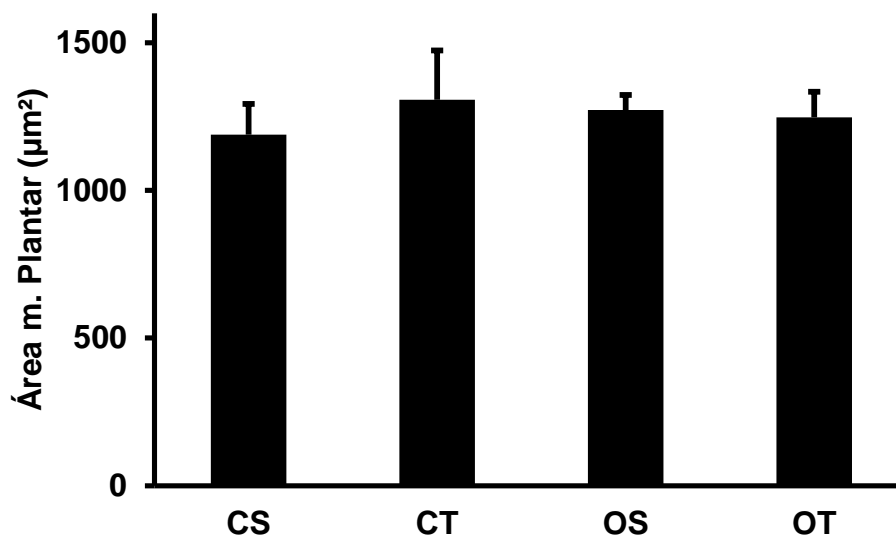


FIGURA 6. Área da fibra muscular do músculo plantar de todos os grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média.

TABELA 4. Área da fibra muscular (μm^2) dos músculos sóleo e plantar de todos os grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10).

Variáveis	Grupos			
Área da fibra muscular	CS	CT	OS	OT
Sóleo (μm^2)	1445,59±58,8	1604,19±372	1497,47±149,8	1602,55±95,8
Plantar (μm^2)	1189,18±103,4	1306,59±167	1271,65±51,9	1246,96±86,5

4.5. Tolerância ao esforço físico progressivo

A figura 7 representa a distância máxima percorrida durante o teste máximo em dois períodos do protocolo experimental, momento pré e pós-treinamento, dos diferentes grupos.

Pode-se observar que os valores do momento pós-treinamento foram maiores que os do momento pré-treinamento, isso para todos os grupos. Entretanto, os grupos treinados, tanto controle como ovariectomizado, apresentaram valores bastante significativos após oito semanas de treinamento físico aeróbio se comparados com os grupos que permaneceram sedentários, ambos os grupos treinados tiveram uma maior distância percorrida. Já uma comparação entre os dois grupos treinados nos permite identificar uma queda no rendimento físico do grupo ovariectomizado, tal diferença mostrou-se significativa representando uma queda de ± 100 metros, caracterizando quase 11% de diferença entre esses grupos.

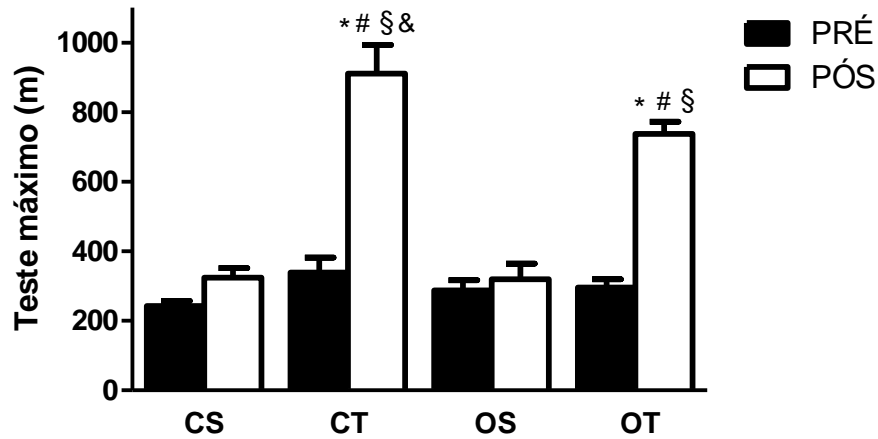


FIGURA 7. Teste de tolerância ao esforço físico nas ratas dos diferentes grupos: controle sedentário (CS-SHAM, n=10), controle treinado (CT-SHAM, n=10), ovariectomizadas sedentária (OS, n=10) e ovariectomizadas treinada (OT, n=10), nos momentos pré (PRÉ) e pós período experimental (PÓS). * diferença significativa versus o momento PRÉ do respectivo grupo; # diferença significativa versus CS PRÉ e PÓS; § diferença significativa versus OS PRÉ e PÓS; & diferença significativa versus OT PÓS ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

5. DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a massa muscular e a área da fibra dos músculos sóleo e plantar, assim como a tolerância ao esforço físico de ratas ovariectomizadas. Além dos objetivos do trabalho, diversos dados foram encontrados e merecem que sejam discutidos, dentre eles a massa corporal e a massa da gordura retroperitoneal.

A massa corporal foi apresentada em três diferentes formas: relação pré e pós-intervenção, delta e comportamento ao longo das semanas. Os grupos ovariectomizados apresentaram sempre maiores valores quando comparado com os grupos controle, propondo que a ovariectomia aumenta a massa corporal das ratas. O fator presente após a ovariectomia citado por muitos autores como o responsável por esse aumento da massa corporal tanto em modelo experimental de menopausa, como pesquisa com humanos, é a deficiência de estrógeno. Heine *et. al.* (2000), assim como Musatov *et. al.* (2007) e Poehlman, Toth e Gardner (2003) confirmaram o papel do estrógeno na regulação da gordura corporal. Acredita-se que baixa concentração de estrógeno seja responsável por aumentar a ingesta alimentar e por diminuir a atividade física diária, gerando assim um balanço energético positivo, promovendo o aumento da massa corporal. Isso é bastante evidente quando é analisado o delta da massa corporal ao final de oito semanas, enquanto o grupo controle apresentou um ganho médio de 53 gramas, o grupo ovariectomizado teve um delta de aproximadamente 97 gramas, quase o dobro do ganho de massa corporal.

Porém, um fator citado acima como responsável pelo aumento da massa corporal, também pode ser comprovado, o nível de atividade física. Mesmo entre os grupos ovariectomizados, o grupo OT teve um aumento menor quando comparado ao grupo OS, variando em quase 20 gramas, aproximadamente 10% da massa corporal inicial, mostrando que o treinamento físico aeróbio de oito semanas, a 60% da velocidade inicial foi positivo para o controle da massa corporal de ratas ovariectomizadas. Além disso, após a 5ª semana, com o reajuste da carga, essa diferença ficou ainda mais significativa com a redução da velocidade do ganho de massa corporal.

Esse resultado é extremamente o oposto do encontrado por Latour, Shinoda e Lavoie (2001), em que o exercício regular em esteira rolante com duração de também oito semanas, não reduziu o ganho de massa corporal de ratas ovariectomizadas. Já um estudo realizado na Escola de Medicina da Universidade de Washington, também teve um resultado positivo quanto o papel do exercício físico para a manutenção e até redução da massa corporal, mas, além disso, também foi observada a redução da circunferência abdominal, gerada pela diminuição da gordura abdominal (KOHRT, EHSANI E BIRGE, 1998), demonstrando assim que além do aumento da massa corporal,

ocorre também uma redistribuição do tecido adiposo nas ratas ovariectomizadas (IGNACIO *et.al.*, 2009).

Dados deste trabalho nos mostram que as ratas sedentárias que passaram pelo procedimento de ovariectomia apresentaram maior quantidade de gordura retroperitoneal quando comparada com as ratas do grupo controle sedentário, evidenciando que o processo de menopausa por si só aumenta a gordura abdominal. Porém, também como mostrado por Wendy, *et.al.* (1998), os animais ovariectomizados e que foram submetidos ao treinamento físico aeróbio, apresentaram menores valores em relação ao grupo que permaneceu sedentário, comprovando mais uma vez, que além de reduzir a massa corporal, o treinamento físico aeróbio para ratas ovariectomizadas também é benéfico para a redução da gordura abdominal. Esse dado é bastante significativo, pois o tecido adiposo é um tecido bastante ativo e liberador de adipocitocinas responsáveis pela regulação da homeostase, da pressão arterial, do metabolismo tanto de glicose quanto de lipídeos, assim como da inflamação e aterosclerose (MAYES E WATSON, 2004). Ou seja, controlar a massa corporal, assim como a quantidade de gordura abdominal, é um fator determinante para a saúde da mulher na menopausa.

Todas essas alterações na taxa metabólica basal, além de estarem relacionadas ao aumento da ingestão alimentar e da queda dos níveis de atividade física, também podem estar associadas à diminuição da massa magra (POEHLMAN, TOTH E GARDNER, 2003). Sabe-se que após a menopausa, por diversos fatores, ocorre a diminuição do tecido músculo esquelético (KUCZMARSKI, WEDDLE, JONES, 2010) e tal evento é o objetivo principal desse estudo, principalmente pela importância que o músculo esquelético possui para a homeostasia do organismo humano.

Foi observado que a massa muscular variou entre os grupos. O grupo de ratas ovariectomizadas que permaneceram sedentárias apresentou menor valor de massa do músculo sóleo quando comparado aos outros três grupos. Já em relação ao músculo plantar, a massa se apresentou maior no grupo ovariectomizado treinado. Esse resultado não vai de encontro com a hipótese do trabalho, porém, algumas hipóteses a cerca desse resultado podem ser citadas. Primeiro, o aumento da massa do músculo não leva em consideração a composição do músculo esquelético, o que pode estar relacionado ao aumento de tecido conjuntivo e até tecido adiposo em conjunto com o tecido muscular. Segundo, o grupo referente a esse dado, foi o grupo treinado, e existe a hipótese de que a mecânica do movimento possa ter gerado diferentes estímulos aos músculos, ainda mais por se tratar na análise de diferentes músculos, que passam por estímulos biomecânicos distintos no movimento da marcha.

Porém, o resultado do músculo sóleo, nos mostra que a ovariectomia reduziu a massa muscular desse respectivo músculo, assim como observado em diversos outros estudos. Brown

(2009) citou a diminuição da massa muscular após a ovariectomia como um efeito indireto da deficiência de estrógeno no músculo esquelético. Outro estudo identificou que a ovariectomia provocou desestruturação nos músculos esqueléticos e diminuição do número de miofibrilas (MOREIRA *et. al.*, 2005). Além disso, Fonseca e seus colaboradores (2012) também evidenciaram a diminuição da massa muscular em um modelo experimental de menopausa, porém, atribuíram essa redução à inatividade física gerada, e não há aspectos hormonais, como a deficiência de estrógeno. O nosso estudo também apresentou dados muito semelhantes, em que o grupo ovariectomizado que passou pelo procedimento de treinamento físico, apresentou valores muito próximos dos grupos controle, possivelmente anulando, em aspectos quantitativos, a ação da ovariectomia sobre o catabolismo muscular.

Em relação à área da fibra muscular, ambos os músculos analisados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados, isso provavelmente se deve ao baixo número de animais por grupo experimental. Outra hipótese é de que o período experimental tenha sido insuficiente para provocar alterações periféricas, como as alterações musculares, e que o aumento da exposição à menopausa induzida resulte em dados mais significativos, porque é sabida a ação da menopausa na alteração da morfologia, da estrutura e da composição do músculo esquelético (FONSECA *et. al.*, 2012).

Todas essas alterações citadas anteriormente estão diretamente relacionadas a um aspecto bastante importante, a tolerância ao esforço físico (FREIBERGER, SIEBER E PFEIFER, 2011). Sabe-se que a produção diminuída de estrógeno promove alterações musculares, como também cardiovasculares, e que esses dois sistemas estão diretamente relacionados ao sucesso em uma prática de exercício físico aeróbio (GREEVES *et. al.*, 1999). Dessa forma, alterações nesses aspectos promoveria diminuição da tolerância à realização de esforço máximo. E foi exatamente esse resultado o observado nesse presente estudo. Os animais ovariectomizados treinados apresentaram menor distância percorrida ao final de um teste máximo progressivo, associando a níveis elevados de estrógeno, uma melhora no rendimento aeróbio. Ogawa *et. al.* (2002) demonstraram que animais que não passaram por um tratamento a base de estrógeno tiveram menor atividade na roda de corrida. Entretanto, por mais que ratas ovariectomizadas treinadas apresentem menor distância percorrida em relação ao grupo controle treinado, o treinamento físico se mostrou bastante benéfico para o controle de alguns aspectos determinantes para a qualidade de vida e prevenção de doenças para mulheres na menopausa, como controle da massa corporal, diminuição da gordura retroperitoneal, melhora da massa muscular e melhora da tolerância ao esforço físico aeróbio.

6. CONCLUSÃO

Com o presente estudo pode-se concluir que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada, com duração de oito semanas, foi capaz de controlar o aumento da massa corporal de ratas ovariectomizadas, assim como diminuir a massa da gordura retroperitoneal presente após a ovariectomia. O treinamento também se mostrou benéfico para a manutenção da massa dos músculos sóleo e plantar.

Em relação à área da fibra muscular os dados não foram significativos.

Já para a tolerância ao esforço físico, o treinamento físico aeróbio foi bastante benéfico e aumentou significativamente a tolerância ao esforço das ratas ovariectomizadas em relação ao grupo sedentário.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRIGHI, J.M.; ALDRIGHI, C.M.S.; ALDRIGHI, A.P.S.; Alterações sistêmicas do climatério. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v.59, n.4, p. 15-21, dez., 2002.

ANDERSON, C.B. When more is better: number of motives and reasons for quitting as correlates of physical activity in women. **Health Education Research**. Oxford, v.18, n.5, p.525-537, out., 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa**. Brasília, 2008.

BOIRIE, Y.; Physiopathological mechanism of sarcopenia. **Journal of Nutrition Health and Aging**. Paris, v.13, n.8, p.717-723, out., 2009.

BROWN, M. Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging. **American Physiological Society**. Bethesda, v.32, n.2, p.120-126, jun., 2008.

BULUN, S.E.; ADASHI, E.Y. **The physiology and pathology on the female reproductive axis**. 11.ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2003

COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH. **Neuroscience and Behavioral Research**. Washington, 2003.

DE ANGELIS, K.L. *et al.* Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, Texas, v.30, n.3, p.767-771, set., 1997.

DE LORENZI, D.R.C., BARACAT, E.C. Climatério e qualidade de vida. **Feminina**, São Paulo, v.33, n.12, p.903-909, out., 2005.

DESCHENES, M. R. Effects of aging on muscle fibre type and size. **Sports Medicine**, Auckland, v.34, n.12, p.809-824, dez., 2004.

DOS REIS, C.M.R.F.; MELO, N.R.; VENOZZO, D.P.; MEIRELLES, E.S.; HALPERN, A. Composição corpórea, distribuição de gordura e metabolismo de repouso em mulheres histerectomizadas no climatério – Há diferenças de acordo com a forma de administração do estrógeno?. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo, v.44, n.2, p.178-185, fev., 2000.

DOUCHI, T. *et al.* The effect of menopause on regional and total body lean mass. **Maturitas**. Amsterdam, v.29, n.3, p.247-252, jun., 1998.

FERNANDES, C.E; FILHO, A.S.P. **Climatério, Manual de Atenção**. Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia. Rio de Janeiro, 1995.

FERREIRA, V. N. *et al.* Menopausa: Marco biopsicossocial do envelhecimento feminino. **Psicologia & Sociedade**. Belo Horizonte, v.25, n.2, p.410-419, maio, 2013.

FONSECA, H. *et al.* Physical inactivity is a major contributor to ovariectomy-induced sarcopenia. **International Journal of Sports Medicine**. Nova Iorque, v.33, n.4, p.268-278, abr., 2012.

FREIBERGER, E.; SIEBER, C.; PFEIFER, K. Physical activity, exercise, and sarcopenia – future challenges. **Wiener Medizinische Wochenschrift**. Austria, v.161, n.17-18, p.416-425, set., 2011.

GREEVES, J.P. *et al.* Changes in muscle strength in women following the menopause: a longitudinal assessment of the efficacy of hormone replacement therapy. **Clinical Science**. Londres, v.97, n.1, p.79-84, jul., 1999.

GRIMBLE, R.F. Inflammatory response in the elderly. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. Londres, v.6, n.1, p.21-29, jan., 2003.

HEINE, P.A. *et al.* Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor- α knockout mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v.97, n.23, p.12729-12734, nov., 2000.

IGNACIO, D.L. *et al.* Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo, v.53, n.3, p.310-317, abr., 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo 2010**. Disponível em <<http://censo2010.ibge.gov.br/>> . Acesso em: 9 mai.2013.

IRIGOYEN, M.C. *et al.* Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**. Texas, v.46, n.4, p.1-6, set., 2005.

JUBRIAS, S.A. *et al.* Decline in isokinetic force with age: muscle cross-sectional area and specific force. **European Journal of Physiology**. Berlin, v.434, n.3, p.246-253, jul., 1997.

KADI, F. *et al.* The effect of physical activity and estrogen treatment on rat fast and slow skeletal muscle following ovariectomy. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**. Londres, v.23, p.335-339, set., 2002.

KENDALL, B.; ESRON, R.; Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. **Sports Medicine**. Auckland, v.32, n.2, p.103-123, set., 2002.

KUCZMARSKI, M.F.; WEDDLE, D.O.; JONES, E.M.; Maintaining functionality in later years: a review of nutrition and physical activity interventions in postmenopausal women. **Journal of Nutrition for the Elderly**, Nova Iorque, v.29, n.3, p.259-292, jul., 2010.

LANG, T. *et al.* Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. **Osteoporosis International**. Londres, v.21, n.4, p.543-559, abr., 2010.

LATOUR, M.G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J.M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **Journal of Applied Physiology**. Washington, v.90, n.1, p. 235-241, jan., 2001.

MALTAIS, M.L.; DESROCHES, J.; DIONNE, I. J. Changes in muscle mass and strength after menopause. **Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions**. Kifissia, v.9, n.4, p.186-197, out., 2009.

MAYES, J.S.; WATSON, G.H. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. **Obesity Reviews**. Oxford, v.5, n.4, p.197-216, nov., 2004.

MESSIER, V.; RABASA-LHORET, R.; BARBAT-ARTIGAS, S.; ELISHA, B.; KARELIS, A.D.; AUBERTIN-LEHEUDRE, M.; Menopause and sarcopenia: a potential role for sex hormones. **Maturitas**. Amsterdã, v.68, n.4, p.331-336, abr., 2011.

MOREIRA, M.A. *et al.* Estudo histomorfométrico do músculo esquelético de ratos fêmeas em anestro. **Acta Cirúrgica Brasileira**. São Paulo, v.20, n.4, p.329-334, ago., 2005.

MORLEY, J.E.; THOMAS, D.R.; WILSON, M.G. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v.83, n.1, p.735-743, abr., 2006.

MUSATOV, S. *et al.* Silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypophalamus leads to metabolic syndrome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v.104, n.7, p.2501-2506, fev., 2007.

PETERSEN, A.M.W.; PEDERSEN, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology**. Bethesda, v.98, n.1, p.1154-1162, abr., 2005.

PIERINE, D.T.; NICOLA, M.; OLIVEIRA, E.P. Sarcopenia: alterações metabólicas e consequências no envelhecimento. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**. Brasília, v.17, n.3, p.96-103, nov., 2009.

POEHLMAN, E.T.; TOTH, M.J.; GARDNER, A.W. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. **Annals of internal Medicine**. Filadelfia, v.123, n.9, p.673-675, nov., 1995.

OGAWA, S. *et al.* Estrogen Increases Locomotor Activity in Mice through Estrogen Receptor α : Specificity for the Type of Activity. **Endocrinology**. Springfield, v.144, n.1, p.230-239, jan., 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Research on the menopause in the 1990s**. Geneva, 1996.

RODRIGUES, N.C. **Ação da laserterapia de baixa intensidade (830NM) na regeneração muscular de ratos idosos. 2009**. 55f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Faculdade de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009

ROUBENOFF, R. Catabolism of aging: is it an inflammatory process? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. Londres, v.6, n.3, p.295-299, maio, 2003.

SANTOS, L. M. *et al.* **Síndrome do climatério e qualidade de vida: Uma percepção das mulheres nessa fase da vida**. Atenção Primária à Saúde. Juiz de Fora, v.10, n.1, p.20-26, jan/jun., 2007.

SIROLA, J.; RIKKONEN, T. Muscle performance after the menopause. **Journal of the British Menopause Society**. Marlow, v.11, n.2, p.45-50, jun., 2005.

TIMMERMAN, K. L.; VOLPI, E. Amino acid metabolismo and regulatory effects in aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition e Metabolic Care**. Londres, v.11, n.1, p.45-49, jan., 2008

THOMAS, J.R.; NELSON, J.K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002

TURATO, E.R. Métodos qualitativos e quantitativos na área da saúde: definições, diferenças e seus objetivos de pesquisa. **Revista Saúde Pública**. São Paulo, v.39, n.3, p.507-514, jun., 2005.

VOLPI, E.; NAZEMI, R.; FUJITA, S. Muscle tissue changes with aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition e Metabolic Care**. Londres, v.7, n.4, p.405-410, jul., 2004.

VOLTARELLI, F.A.; MELLO, M.A.R.; DUARTE, J.A.R. Apoptose e exercício físico: Efeitos sobre o músculo esquelético. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**. Florianópolis, v.10, n.1, p.100-105, fev., 2008.

WENDY, M. *et al.* HRT preserves increases in bone mineral density and reductions in body fat after a supervised exercise program. **Journal of Applied Physiology**. Bethesda, v.84, n.5, p.1506-1512, maio, 1998.

WIK, A. *et al.* Estrogen receptor β is expressed in adult human skeletal muscle both at the mRNA and protein level. **Acta Physiol Scand**. Oxford, v.179, n.4, p.381-387, dez., 2003.

ANEXO



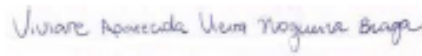
ANEXO 1 – Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD)

Termo de Compromisso de Utilização de Dados - (TCUD)

Eu Mariana Cruz Lazzarin e Alessandra Medeiros, abaixo assinados, pesquisadores envolvidos no projeto de título: “Efeito do treinamento físico aeróbico sobre a musculatura esquelética de ratas ovariectomizadas” nos comprometemos a manter a confidencialidade sobre os dados coletados pela pesquisadora Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga em pesquisa intitulada “Efeitos do Treinamento físico aeróbico sobre a resposta vasomotora de ratas ovariectomizadas” registrada no Comitê de Ética sob o número 0116/12 nos arquivos (prontuários) de Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, bem como a privacidade de seus conteúdos, como preconizam os Documentos Internacionais e a Resolução CNS nº 196/96 do Ministério da Saúde.

Informamos que os dados a serem acessados no prontuário/banco de dados dizem respeito a avaliação do efeito do treinamento físico sobre a musculatura esquelética e tolerância ao esforço físico de ratas ovariectomizadas. Ocorridos entre as datas de: Setembro de 2012 a Dezembro de 2013.

Santos, 13 de setembro de 2013

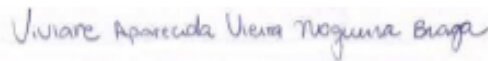
Nome	RG	Assinatura
MARIANA CRUZ LAZZARIN	36590109-X	
ALESSANDRA MEDEIROS	23868270-5	
VIVIANE AP. V. N. BRAGA	MG14475532	

OBS: TODOS OS PESQUISADORES QUE TERÃO ACESSO AOS DOCUMENTOS DO ARQUIVO DEVERÃO TER O SEU NOME E RG. INFORMADO E TAMBÉM DEVERÃO ASSINAR ESTE TERMO. SERÁ VEDADO O ACESSO AOS DOCUMENTOS A PESSOAS CUJO NOME E ASSINATURA NÃO CONSTAREM NESTE DOCUMENTO.

ANEXO 2 – Carta de autorização para uso do banco de dados**Carta de autorização para uso do banco de dados**

Eu, Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, responsável principal pelo projeto de Mestrado, o qual pertence ao curso de Educação Física da Universidade Federal de São Paulo, autorizo a utilização dos dados do trabalho de pesquisa sob o título “Efeito do treinamento físico aeróbico sobre a musculatura esquelética de ratas ovariectomizadas” com o objetivo de avaliar o efeito do treinamento físico sobre a morfometria do músculo esquelético de ratas ovariectomizadas.

Esta pesquisa está sendo orientada pela Professora Alessandra Medeiros



Assinatura do Pesquisador Principal

RG MG 14475532



Assinatura do Professor da Pesquisa


RG 23868270-5

UNIFESP

2013

ANEXO 3 – Parecer do Comitê de Ética

e-mail
19/04/12



UNIFESP
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 5 de abril de 2012
CEP Nº: 0116/12

Ilmo(a) Sr(a)
Pesquisador(a): Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga
Disciplina/Departamento: Exercício físico e doenças crônicas II - CAMPUS BAIXADA SANTISTA
Pesquisadores associados: Alessandra Medeiros (orientadora)

**Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo**

TÍTULO DO ESTUDO: EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A RESPOSTA VASOMOTORA DE RATAS OVARIETOMIZADAS :

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Experimental, categoria B - estudo crônico

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Não se aplica

OBJETIVO DO ESTUDO: O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico (esteira rolante para ratos) sobre a resposta vasomotora (dilatação) em aorta de ratas ovariectomizadas, destacando-se o papel do NO e da acetilcolina nestas respostas.

RESUMO: Estudo com 40 ratos wistar, fêmeas, com 8 semanas. Anestésico: cloridrato de cetamina e de xilazina. Buprenorfina. Eutanásia: anestesia. As ratas serão anestesiadas e realizada ooforectomia bilateral. Após a cirurgia de ooforectomia os grupos de ratas treinadas serão submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira rolante com velocidade e carga progressiva durante 8 semanas (5 dias por semana) e intensidade de 50 a 60% da velocidade máxima no teste de esforço inicial. Será realizada avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo utilizando protocolo com velocidade inicial de 5m/min, sendo intensificado a cada 5 minutos com velocidade de 5 m/min, até chegar o instante em que o animal não conseguir manter o padrão de corrida 124. Este teste será realizado no início, meio e fim do período de treinamento físico. Será realizado registro indireto da pressão arterial caudal e frequência cardíaca. Após um período de 48h da última sessão de treino, ou sedentarismo, os ratos serão sacrificados, a aorta torácica será imediatamente retirada. Dois anéis serão imediatamente utilizados para análise da reatividade vascular in vitro e 1 anel será congelado (-80oC) para posterior quantificação de nitrato e nitrito.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: O treinamento físico exerce um efeito benéfico sobre a função endotelial, sendo responsável pela elevação da expressão de enzimas antioxidantes, por promover uma maior produção e biodisponibilidade de NO para os vasos, por restaurar a vasodilatação endotélio dependente induzida pela acetilcolina e por reduzir a resistência vascular periférica, fatores que contribuem para a melhora da função endotelial. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a resposta vasomotora em aorta de ratas ovariectomizadas, destacando-se o papel do NO e da acetilcolina nestas respostas.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo. Estudo aprovado pelo Núcleo de Bioética da Baixada Santista

TCLE: Não se aplica

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo - R\$ 1700,00

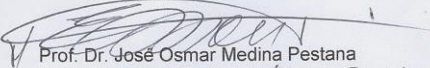
CRONOGRAMA DO ESTUDO: 24 meses

PRIMEIROS RELATÓRIOS PARCIAIS PREVISTOS PARA : 31/3/2013 e 26/3/2014

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Página 1 de 1

Rua Botucatu, 572 - 1o andar - CEP 04023-062 - São Paulo/Brasil

CEP N 0116/12